초심자를 위한 신경세포 이용 체외실험 안내

고 성 호
한양대학교 구리병원 신경과

Beginners' Guide to the Use of in Vitro Neural Cells

Seong-Ho Koh, MD, PhD
Department of Neurology, Hanyang University Guri Hospital, Guri, Korea

With the development of neuroscience, uncountable in vitro studies have been being done. Because it is not easy to access the central nervous system in the body, various kinds of in vitro models of neurological diseases are used to evaluate causal relationships between certain stresses and neurological diseases. Depending on the purposes of in vitro studies, many types of neuronal cells or stem cells can be used. For examples, PC12 cells are one of the most commonly used neuronal cells for the evaluation of cell death mechanisms due to any stresses. SH-SY5Y cells can be used for the studies about Parkinson's disease. Primary cultured cortical neurons are used to assess the toxic mechanisms by stressful conditions and develop new therapeutic strategies. Besides these cells, there are a lot of different cells that can be used for neuroscience and neurological diseases. Based on the methods, in vitro models of diverse neurological diseases can be made, such as ischemic stroke, Alzheimer's disease, Parkinson's disease. In this manuscript, several kinds of in vitro neural cells will be discussed to help beginners' understanding.

Key Words: Neural cells, *In vitro* study, Ischemic Stroke, Alzheimer's disease, Parkinson's disease

서 론

신경과 의사라면 누구나 다양한 신경계질환들의 정확한 병태생리를 밝히고 이를 바탕으로 새로운 진단 및 치료법을 개발하는 것에 관심을 갖는 것은 당연한 일일 것이다. 신경계는 우리 몸의 가장 중요한 부분이기도 하며, 가장 깊숙한 곳에 자리잡고 있어 살아있는 상태에서 신경계에 대한 연구를 진행하기란 쉽지 않다. 컴퓨터 단층 촬영(computerized tomography), 자기 공명 영상법(magnetic resonance imaging), 초음파 검사법(ultrasonography), 양전자 방사 단층 촬영법(positron emission tomography) 등 다양한 영상학적 진단 방법들이 개발되고 발전하여 신경계질환을 가진 환자들의 진단에 도움을 주고 있는 것은 사실이지만, 이는 신경계에 나타난 비정상적인 현상을 찾아내 진단에 이용하는 것으로 병태생리를 밝혀서 새로운 치료법을 개발하는데 사용되기에는 어려움이 있다. 또한, 사후에 신경계 조직을 구해서 다양한 방법으로 병태생리에 관여하는 인자들을 찾는 연구를 할 수도 있으나, 사후 신경계 조직을 얻는 것 역시 아직은 쉬운 일이 아니다. 특히 유교사상이 강한 우리나라에서는 시신 기증이 원활하지 않아 신경계 조직을 얻는 것조차도 매우 힘든 일이므로 이런 조직을 이용해 연구를 한다는 것은 생각처럼 쉬운 일이 아니다. 다른 문제점으로는 사후에 얻게 되는 신경계 조직들은 질병의 과정보다는 결과를 반영하는 경우가 많아 병의 진행에 관여하는 병태생리를 정확히 밝히기에 어려움이 있을 수 있다. 따라서, 여기서 얻어진 결과들을 바탕으로 새로운 진단 및 치료법을 개발하는데 문제가 있을 가능성도 배제할 수 없다고 생각한다.

이런 문제점들을 극복할 수 있는 방법이 신경계질환들에 대한 다양한 세포모델과 동물모델을 이용하는 것이다. 물론 질환의 세포모델이나 동물모델들은 인간의 질병 과정과 비교할 때 아주 짧은 시간에 제한된 조건 하에서 원인과 결과를 보

Seong-Ho Koh, MD, PhD
Department of Neurology, Hanyang University Guri Hospital
153 Gyeongchun-ro, Guri 11923, Korea
Tel: +82-31-560-2267 Fax: +82-31-560-2267
E-mail: ksh213@hanyang.ac.kr

는 방법으로 실험이 진행되기에 인간의 질병을 정확히 대변할 수 있느냐 하는 의문이 제기될 수 있으나, 지금까지 많은 병리기전을 새롭게 밝히고 이를 바탕으로 새로운 치료법을 만드는 과정에 이용되고 있다는 점을 고려할 때, 그 유용성을 인정할 수 밖에 없다는 생각이다. 신경계질환의 세포모델과 동물모델은 각각의 장단점이 있다. 신경계질환의 세포모델의 경우 비교적 빠른 시간 내에 다양한 원인에 따른 결과를 확인할 수 있다는 장점이 있으며, 다양한 방법들을 이용하여 세포의 사멸 기전을 직접 규명할 수 있다는 점도 장점이다. 이렇게 밝혀진 기전들을 기반으로 새로운 진단 및 치료법 개발을 위한 가능성을 제시할 수 있다는 점이 세포모델을 이용한 신경계질환 연구의 가장 큰 장점이 될 수 있다. 그러나, 앞서 기술한 바와 같이 아주 제한된 환경에서 원인이 될 자극을 가하고 개별 세포에서만 일어나는 현상만을 확인할 수 있기에 실제 체내에서 존재하는 복잡한 환경과는 매우 다르다는 점이 가장 큰 단점이다. 즉, 체내의 복잡한 환경을 고려할 때 세포모델에서 일어나는 현상이 실제로 체내에서도 똑같이 일어날지에 대한 의문은 세포모델을 이용한 실험이 극복하기 매우 어려운 한계라고 할 수 있다. 반면, 동물모델의 경우 세포모델에 비해 실제 생체 내에서 일어나는 현상과 좀 더 가까울 수 있다는 장점이 있고 세포모델보다는 훨씬 더 복잡한 환경을 가지고 있으므로 모델별로 좀 더 환자에 가까운 병태생리현상과 치료반응을 보일 수 있다는 장점이 있다. 그러나, 동물모델 역시 명확한 한계가 있는데, 세포모델에 비해 오랜 시간이 걸리며 많은 비용을 사용하게 되고, 이렇게 동물모델을 이용한 실험을 진행하더라도 각 동물모델들 역시 제한된 조건에서 만들어지고 이용되기 때문에 실제 인간의 질환에서 나타나는 복잡한 현상들을 완벽하게 재현할 수 없다는 단점이 있다. 이런 이유들로 동물모델에서 명확한 효과를 보인 새로운 치료법들이 임상에서는 실패하는 경우가 훨씬 더 많다는 문제점이 야기되고 있으며, 최근에는 이런 이유로 동물모델을 이용한 실험에 대해 비판적인 의견도 대두되고 있는 것이 사실이다.

본 고에서는 앞서 기술한 바와 같이 장단점이 있음에도 불구하고 신경계질환의 다양한 원인에 따른 직접적인 결과를 밝히고 그 병리기전을 이해하는데 도움을 주는 다양한 신경계질환들의 세포모델들과 이를 이용한 실험방법들에 대하여 초심자가 이해할 수 있도록 쉽게 기술하고자 한다.

1. 다양한 종양세포로부터 유래된 신경세포들: PC12 cells, SH-SY5Y cells, etc.

1.1. PC12 cells

PC12 세포는 집쥐의 부신 수질에 발생한 크롬친화세포종(pheochromocytoma)으로부터 유래된 세포주인데, 신경성장인자를 처리하면 최종적으로 신경세포로 분화하는 특성을 가지고 있어서,[1] 신경세포를 이용하고자 하는 실험들에서 많이 사용되고 있다. PC12 cell의 장점은 비교적 배양이 쉽고, 배양법 및 신경세포 분화 방법이 이미 명확하게 확립되어 있어 비교적 큰 문제없이 PC12 cell를 신경세포로 분화시킨 후 신경세포를 이용한 실험에 사용할 수 있다는 것이다. 굉장히 다양한 신경과학 영역에서 전세계적으로 사용되고 있으므로, PC12 cell는 비교적 구하기가 쉽고, 구입비용이 저렴하며 배지와 관련된 비용 역시 적게 드는 장점이 있다. PC12 세포의 배양을 위해서는 RPMI 1640, 10% horse serum, 5% fetal bovine serum, Antibiotic 및 Antimycotic로 구성된 배지를 사용하는데, 빠르게 자라는 편이어서 실험에 필요한 많은 양의 세포를 얻기 쉽다. 또한, 신경성장인자를 10 ~ 14일 정도 처리하면, 신경돌기가 잘 발달하며 신경세포로 분화하기에 신경과학 관련 실험을 진행하기에 용이하다(Fig. 1). PubMed에서 PC12 cell를 keyword로 입력하여 논문들을 검색할 경우 16000편에 가까운 논문들이 찾아질 정도로 널리 이용되고 있다. 본 저자 역시 PC12 cell를 이용하여 많은 연구들을 진행해 오고 있는데, 산화성 손상, L-DOPA toxicity, 저산소성 손상

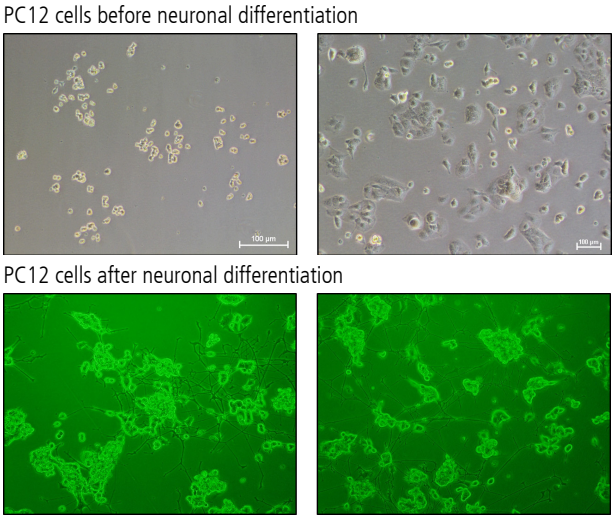


Figure 1. Morphology of PC12 cells depending on differentiation

등에 관한 실험을 진행하여 보고한 바 있다.[2-5] 이와 같이 PC12 cell는 배양이 쉽고 신경세포로 분화가 가능하여 신경과학분야에서 많이 이용되고 있으나 역시 단점이 존재하는데, 크롬친화세포종에서 유래된 세포이므로 신경세포로 분화한 후에도 종양세포의 특성이 남아 있을 수 있다는 가능성으로 인해 아주 기초적인 실험에 주로 이용되고 있다. 따라서, PC12 cell 만을 이용해 진행한 연구의 경우 높은 영향력계수(impact factor)를 갖는 저널에 채택되기 쉽지 않다는 점이 큰 단점이라고 할 수 있다. 이런 단점을 제외한다면, 개인적으로는 초심자들이 실험을 처음 배우기에 PC12 cell만큼 좋은 세포도 없다는 생각이다.

1.2. SH-SY5Y cells

SH-SY5Y 세포는 신경아세포종에서 유래된 세포주인데, 신경세포의 기능 및 분화에 관한 다양한 세포실험에 이용되고 있다(Fig. 2). 이 세포는 아드레날린 및 도파민성 표지자들을 갖기 때문에 특히 파킨슨병에 대한 세포모델로 많이 이용되고 있다. 역시, 이 세포들을 이용한 연구들도 많이 진행되어 SH-SY5Y cell를 keyword로 PubMed에서 찾으면 6000편이 넘는 논문들이 검색된다.[6,7] PC12 cell과 마찬가지로 배양이 쉽고, 쉽게 구할 수 있는 편이다. 배지 성분도 DMEM, Ham's F12 medium과 10% supplemental fetal bovine serum 등으로 간단한 편이며, 빠르게 자라 다양한 실험들을 진행하기에 유리한 편이다. 이 세포 역시 종양에서 유래된 세포이므로 종양의 특성을 완전히 없앨 수 없다는 문제는 PC12 cell과 똑 같은 단점이 되고 있다. 이 세포들 역시 초심자들이 실험을 배울 때 사용하기에 유리한 부분이 있다.

1.3. 기타

그 밖에도 실험 목적에 따라 다양한 세포주들을 사용할 수 있으며, 구체적인 정보는 American Type Culture Collection (https://www.atcc.org/)에서 확인할 수 있다. 몇가지 예를 들면, 슈반세포를 이용한 실험을 계획한다면 슈반세포종 유래의 RT4-D6P2T 세포를 사용할 수 있으며, 소뇌의 수아세포에 대한 연구는 소뇌 수아세포종 유래의 Daoy 세포를 이용할 수도 있다.

2. Primary cultured cortical neurons

2.1. Primary cultured cortical neurons

앞서 기술한 다양한 종양유래 신경세포들을 이용한 실험에 익숙해지면 조금 더 기술적으로 향상된 신경세포들을 이용하여 실험들을 해볼 수 있다. 그 첫번째 예가 일차 배양된 대뇌피질 신경세포를 이용하는 것이다. 대뇌 피질 신경세포의 일차 배양은 앞서 기술한 종양유래 신경세포 배양보다는 과정이 복잡하고 어려움이 따르지만 배양에 성공하면 좀 더 깊이 있는 연구들을 진행할 수도 있다. 일차 배양된 대뇌 피질 신경세포를 이용하면, 신경세포의 형태, 분화, 스냅스 기능, 신경전달물질의 분비 및 역할, 전임상 약물 개발을 위한 신경독성 분석과 다양한 질병 모델들에 대한 연구를 진행할 수 있다. 배양 과정을 간단히 기술하면, 태아 17 내지 19일령의 뇌를 체외로 꺼내서 피질 부분을 분리하고 세포 단위로 분리한 후 다양한 배지들을 적절히 처리해주고 7일 정도를 기다리면 일차 배양 피질 신경세포들을 얻을 수 있다(Fig. 3). 이때 제대로 얻었는지를 확인하기 위해 일부의 세포들을 이용하여 면역세포화학염색을 시행할 수 있으며, 보통 NeuN, MAP2와 같은 신경세포의 표지자를 이용한다. 이렇게 얻게 된 세포들을 이용하면 어떤 자극이 대뇌 피질 세포에 어떤 영향을 미치는지 직접적으로 규명할 수 있으며, 다양한 방법들을 통하여 기전을 밝히는데 사용될 수 있다.[8-10] 단점으로는 다량의 세포들을 한꺼번에 얻을 수 없으므로, 실험에 사용되는 기간이 길며 비용도 많이 든다는 점이다. 일차 배양 대뇌 피질 세포를 이용하는 실험은 같은 연구 내용이라면 종양 유래 신경세포보다 좀 더 영향력 계수가 높은 저널에 채택될 가능성이 있다. 이 세포들을

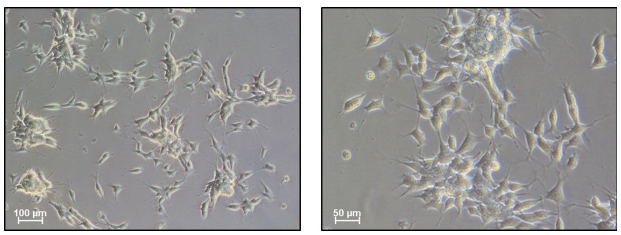


Figure 2. Morphology of SH-SY5Y cells

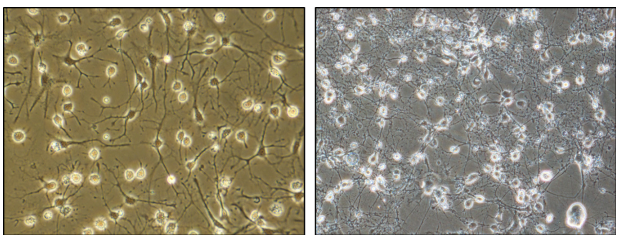


Figure 3. Culture of primary cortical neurons.

이용한 연구들도 매우 활발하게 진행되고 있으며 primary cultured cortical neuron으로 PubMed에서 검색을 하면 약 5500개 정도의 논문들이 검색된다.

2.2. Primary cultured astrocytes, oligodendrocytes, and microglia

일차 배양 대뇌 피질 신경세포보다 배양 과정이 더 복잡하고 어려워 초심자가 하기에는 어려움이 따르지만, 앞서 기술한 다양한 세포들을 이용하여 배양 기술이 발전한다면, 도전해볼 수 있는 배양이 일차 성상세포, 희돌기교세포 및 소교세포 배양이다(Fig. 4). 성상세포 배양은 상대적으로 쉬운 편이나, 희돌기교세포 및 소교세포 배양은 상당히 까다로워 초심자가 하기에는 무리가 있을 수 있다. 그러나, 배양에 성공한다면 상당히 의미 있는 연구들을 진행할 수 있으며 이렇게 얻어진 연구결과들은 좀 더 영향력계수가 높은 논문들에 채택될 가능성이 높다. 그러나 더 중요한 것은 연구자가 하고자 하는 연구 목표를 잘 정하고 목표에 맞는 세포를 배양하여 이용하는 것이다.

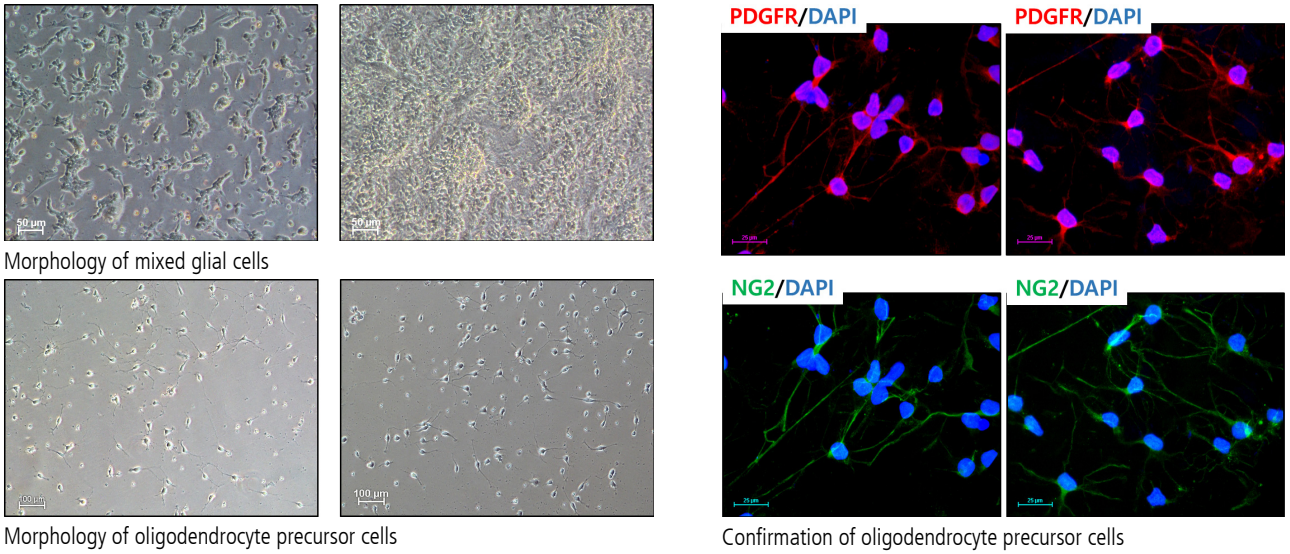
3. Various stem cells

3.1. Neural stem cells

줄기세포는 지금도 다양한 신경계질환들에 대한 새로운 치료법으로 혹은 질병에 대한 연구를 위한 모델로 많은 관심의 대상이 되고 있고 줄기세포를 배양한다는 것은 조금 더 심도 있는 연구를 할 수 있다는 의미가 되기도 한다. 본 연구자도 다양한 줄기세포들을 배양하여 연구들을 진행해오고 있으며, 이를 바탕으로 상당히 재미있는 결과들을 보고하고 있다. 이 중에서도 최근에는 신경줄기세포를 이용한 연구를 활발하게 진행하고 있는데, 신경줄기세포는 일차 배양을 통해 직접 얻을 수도 있으며 판매하는 회사를 통해 구입해서 사용할 수도 있다. 우리 실험실의 경우 집쥐의 신경줄기세포들을 다량으로 사용하기에 직접 일차 배양해서 얻고 있으며, 여기서 얻어진 중요한 현상들이 인간 신경줄기세포에서도 나타나는지 확인하기 위해 인간 신경줄기세포 배양 회사로부터 구입해서 실험에 이용하고 있다(Fig. 5). 신경줄기세포를 이용해서 다양한 신경과학 실험들이 가능한데, 뇌경색 세포모델, 알츠하이머병 세포모델, 산화성 손상 세포모델, 파킨슨병 세포모델들을 만들고 이들에서 일어나는 현상들을 분석하고 기전을 강화하거나 후보 약제들을 처리한 후 효과를 분석하는 연구를 수행할 수 있다.[11-14] 세포배양을 처음 배우는 초심자들이 하기에는 쉽지 않을 수 있으나 익숙해지고 나면 큰 어려움없이 실험을 진행할 수 있다.

3.2. Mesenchymal stem cells

직접적인 신경세포는 아니지만 신경계질환 환자들의 치료를 위한 목적으로 많이 연구되고 있으므로 중간엽 줄기세포에 대해서도 알 필요가 있다. 중간엽 줄기세포는 다분화능을

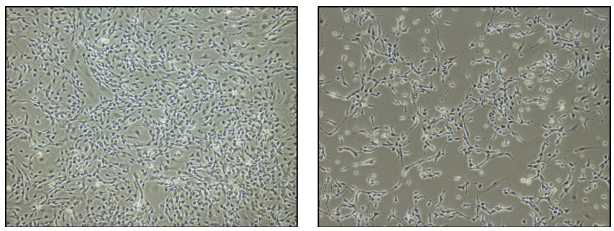


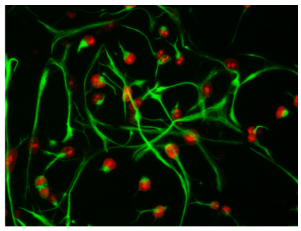
Morphology of mixed glial cells

Morphology of oligodendrocyte precursor cells

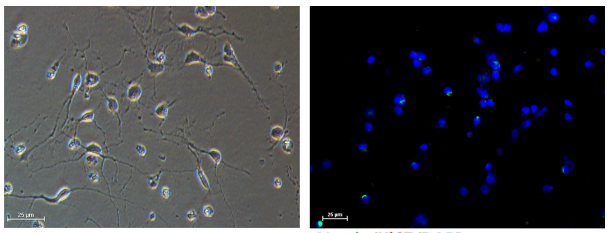
Confirmation of oligodendrocyte precursor cells

Figure 4. Culture of glial cells including oligodendrocyte precursor cells.

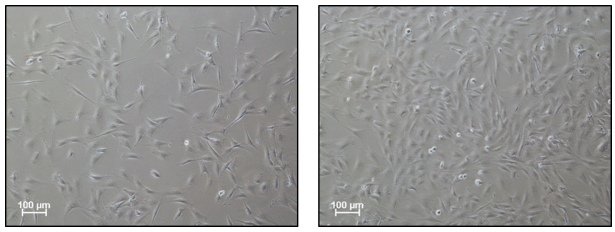

Culture of rat neural stem cells

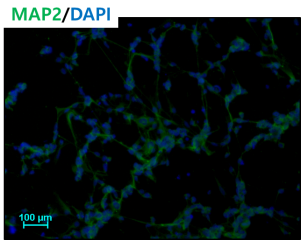

Nestin/Ki67

Confirmation of rat neural stem cells



Differentiation of rat neural stem cells to neurons


Culture of human neural stem cells



Differentiation of human stem cells to neurons

Figure 5. Culture, confirmation and differentiation of neural stem cells.

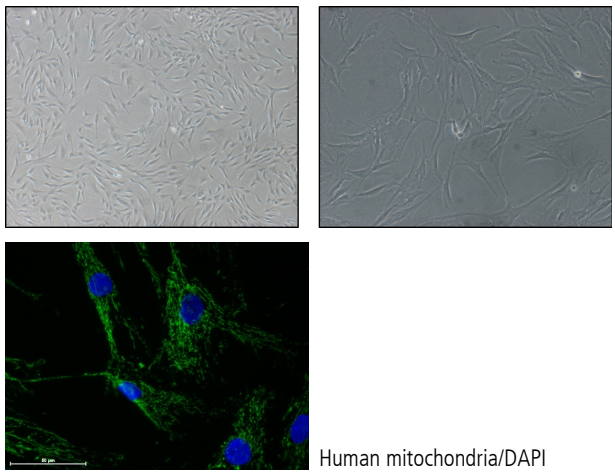

Human mitochondria/DAPI

Figure 6. Morphology of human mesenchymal stem cells

가진 간질 세포를 의미하는데, 몸의 다양한 부위에 존재하며, 특별한 조작이 가해지지 않는다면 골아 세포, 조연골 세포, 근육 세포 및 지방 세포로 분화하는 것으로 알려져 있다. 그러나, 특정 조건이 가해지면 중간엽 줄기세포에서 외배엽 세포인 신경세포로 분화할 수도 있는 것으로 알려져 있으며, 분화하지는 않더라도 다양한 신경영양인자들을 분비함으로써, 신경세포의 생존을 증가시킬 수 있기에 이를 이용한 치료법을 개발하고자 많은 노력을 하고 있는 것이다. 다른 줄기세포들에 비해 중간엽 줄기세포의 경우 난치성 신경계질환 치료를 위한 임상연구에 이용하기가 쉬운 편인데, 분화가 안정적이어서 암세포 가능성이 없고 얻는 과정에 윤리적인 문제가 적어서이다. 본 연구실에서도 중간엽줄기세포를 이용한 신경계질환 치료법 개발에 관한 연구를 지속해오고 있다(Fig. 6).[9, 15-17] 중간엽 줄기세포의 경우 환자의 골수나 지방조직을 얻을 수 있다면, 직접 배양이 가능하며, 그렇지 않다면 세포 배양 회사에서 구입하여 사용할 수도 있다.

3.3. iPSCs, ESCs

줄기세포를 이용한 실험에 있어서 현재 가장 각광받는 부분은 배아줄기세포나 역분화줄기세포를 이용하는 실험일 것

이다. 다른 세포들을 이용하는 실험들과 달리 이런 세포들의 배양 및 유지를 위해서 비교적 많이 비용이 들어가고 과정이 어렵기에 이는 세포 실험에 관해서 상급자라야 가능하며, 따라서, 이런 세포들을 이용한 실험은 아직도 좋은 저널에 채택될 가능성이 높다. 본 연구실에서도 시도를 해보려고 하였으나, 여러가지 문제점들과 유지 비용을 고려해야 하고 이 세포들을 이용해서 어떤 실험을 할 지 계획이 명확하지 않아 중단한 적이 있을 정도로 충분한 연구비와 실험 목적이 갖춰진 후 도전하는 것이 좋을 것이라고 생각한다.

4. 다양한 신경세포들을 이용한 실험들의 예

지금까지 기술한 여러 신경세포 혹은 줄기세포들을 이용하여 다양한 신경계질환에 대한 세포 모델들 만들고 이를 이용하여 새로운 기전을 밝히거나 치료법을 개발하는 연구들을 진행할 수 있다. 예를 들어 세포에 Oxygen-glucose deprivation/Reoxygenation에 의한 손상을 가하는 경우 뇌경색의 세포 모델로 사용이 가능하며, 아밀로이드 베타 펩타이드를 올리고머화시킨 후 처리하면 알츠하이머병의 세포 모델로 이용할 수 있다. 반면, 과산화수소를 세포에 처리하면 산화성 손상 모델로 이용할 수 있으며, 이밖에도 각 실험 목적에 따라 다양한 자극들을 처리하면 각각의 신경계질환에 대한 세포 모델로 이용할 수 있다. 본 저자의 실험실을 예로 들어보면, oxygen-glucose deprivation/reoxygenation를 이용한 뇌경색 세포 모델의 유도를 위해 anaerobic chamber를 이용하고 있으며(Fig. 7), 알츠하이머병 세포 모델을 위해서는 아밀로이드 베타 펩타이드를 올리고머화 시킨 후 세포에 처리해서 실험을 진행하고 있다(Fig. 8).

Figure 7. Anaerobic chamber for oxygen-glucose deprivation and reoxygenation

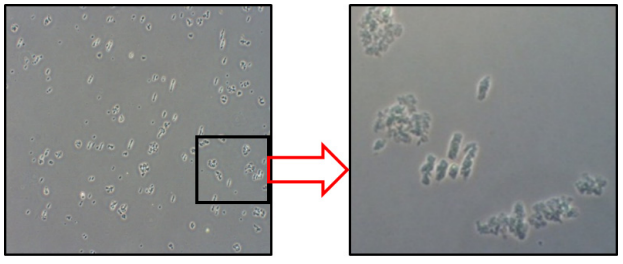


Figure 8. Oligomerization of amyloid beta peptide

결 론

신경과학은 매우 빠르게 발전하고 있으며, 이와 더불어 다양한 신경세포 혹은 줄기세포들이 이용되고 있다. 신경과의사로 신경과학에 관심을 가진 사람이라면 어떤 세포들이 신경계질환의 세포모델로 이용되고 있는지 알 필요가 있으며 신경과학 분야에서 나오는 다양한 논문들을 읽고 이해하는데 도움이 될 수 있을 것이다. 마지막으로, 나중에 본인이 직접 실험을 하고자 할 때, 목적에 맞는 세포들을 선택하여 실험을 하고자 할 때 도움이 될 수 있을 것이다.

Acknowledgements

This research was supported by the Basic Science Research Program of the National Research Foundation of Korea funded by the Ministry of Science, ICT and Future Planning (2015R1A2A2A04004865).

References

1. Greene LA, Tischler AS. Establishment of a noradrenergic clonal line of rat adrenal pheochromocytoma cells which respond to nerve growth factor. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 1976;73:2424-2428
2. Koh SH, Kim SH, Kwon HS, Song CW, Kim JH, Kim J, Chung B, Kim MH, Gong G, Yu HJ, Jung HK. Cytoprotective effect of epigallocatechin gallate (egcg) in oxidative-stressed pc12 cells following h2o2 exposure-effect of egcg on phosphoinositide 3-kinase/akt and glycogen synthase kinase-3 pathway. *J Korean Neurol Assoc*. 2003; 21:392-400

3. Koh SH, Kwon H, Park KH, Ko JK, Kim JH, Hwang MS, Yum YN, Kim OH, Kim J, Kim HT, Do BR, Kim KS, Kim H, Roh H, Yu HJ, Jung HK, Kim SH. Protective effect of diallyl disulfide on oxidative stress-injured neuronally differentiated pc12 cells. *Brain Res Mol Brain Res*. 2005;133:176-186
4. Lee YJ, Park KH, Park HH, Kim YJ, Lee KY, Kim SH, Koh SH. Cilnidipine mediates a neuroprotective effect by scavenging free radicals and activating the phosphatidylinositol 3-kinase pathway. *J Neurochem*. 2009;111:90-100
5. Park HH, Lee KY, Kim SH, Lee YJ, Koh SH. L-dopa-induced neurotoxicity is reduced by the activation of the pi3k signaling pathway. *Toxicology*. 2009;265:80-86
6. Kim IS, Koppula S, Park SY, Choi DK. Analysis of epidermal growth factor receptor related gene expression changes in a cellular and animal model of parkinson's disease. *Int J Mol Sci*. 2017;18
7. Koh SH, Kim SH, Kim HT. Role of glycogen synthase kinase-3 in l-dopa-induced neurotoxicity. *Expert Opin Drug Metab Toxicol*. 2009;5:1359-1368
8. Noh MY, Kim YS, Lee KY, Lee YJ, Kim SH, Yu HJ, Koh SH. The early activation of pi3k strongly enhances the resistance of cortical neurons to hypoxic injury via the activation of downstream targets of the pi3k pathway and the normalization of the levels of parp activity, atp, and nad(+). *Mol Neurobiol*. 2013;47:757-769
9. Kim YS, Noh MY, Cho KA, Kim H, Kwon MS, Kim KS, Kim J, Koh SH, Kim SH. Hypoxia/reoxygenation-preconditioned human bone marrow-derived mesenchymal stromal cells rescue ischemic rat cortical neurons by enhancing trophic factor release. *Mol Neurobiol*. 2015;52:792-803
10. Choi H, Park HH, Koh SH, Choi NY, Yu HJ, Park J, Lee YJ, Lee KY. Coenzyme q10 protects against amyloid beta-induced neuronal cell death by inhibiting oxidative stress and activating the p13k pathway. *Neurotoxicology*. 2012;33:85-90
11. Choi YK, Maki T, Mandeville ET, Koh SH, Hayakawa K, Arai K, Kim YM, Whalen MJ, Xing C, Wang X, Kim KW, Lo EH. Dual effects of carbon monoxide on pericytes and neurogenesis in traumatic brain injury. *Nat Med*. 2016;22:1335-1341
12. Bak SW, Choi H, Park HH, Lee KY, Lee YJ, Yoon MY, Koh SH. Neuroprotective effects of acetyl-l-carnitine against oxygen-glucose deprivation-induced neural stem cell death. *Mol Neurobiol*. 2016;53:6644-6652
13. Park HH, Yu HJ, Kim S, Kim G, Choi NY, Lee EH, Lee YJ, Yoon MY, Lee KY, Koh SH. Neural stem cells injured by oxidative stress can be rejuvenated by gv1001, a novel peptide, through scavenging free radicals and enhancing survival signals. *Neurotoxicology*. 2016;55:131-141
14. Koh SH, Liang AC, Takahashi Y, Maki T, Shindo A, Osumi N, Zhao J, Lin H, Holder JC, Chuang TT, McNeish JD, Arai K, Lo EH. Differential effects of isoxazole-9 on neural stem/progenitor cells, oligodendrocyte precursor cells, and endothelial progenitor cells. *PLoS One*. 2015;10:e0138724
15. Kim YS, Noh MY, Kim JY, Yu HJ, Kim KS, Kim SH, Koh SH. Direct gsk-3beta inhibition enhances mesenchymal stromal cell migration by increasing expression of beta-pix and cxcr4. *Mol Neurobiol*. 2013;47:811-820
16. Koh SH, Baik W, Noh MY, Cho GW, Kim HY, Kim KS, Kim SH. The functional deficiency of bone marrow mesenchymal stromal cells in als patients is proportional to disease progression rate. *Exp Neurol*. 2012;233:472-480
17. Koh SH, Huh YM, Noh MY, Kim HY, Kim KS, Lee ES, Ko HJ, Cho GW, Yoo AR, Song HT, Hwang S, Lee K, Haam S, Frank JA, Suh JS, Kim SH. Beta-pix is critical for transplanted mesenchymal stromal cell migration. *Stem Cells Dev*. 2012;21:1989-1999